

Title	Structure analyses of tryptophan synthase a- and b2-subunits from Escherichia coli
Author(s)	西尾, 和也
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46436">https://hdl.handle.net/11094/46436</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

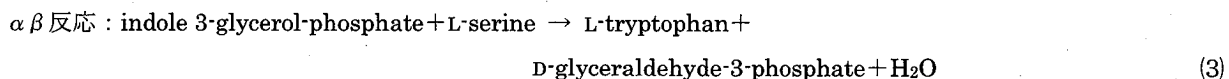
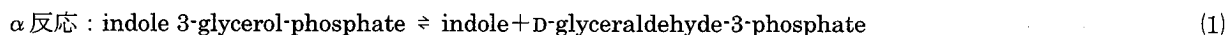
氏 名	にし お かず や 西 尾 和 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 20049 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学 位 論 文 名	Structure analyses of tryptophan synthase $\alpha$ - and $\beta_2$ -subunits from <i>Escherichia coli</i> (大腸菌由来トリプトファン合成酵素 $\alpha$ 及び $\beta_2$ サブユニットの構造解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 月原 富武  (副査) 教 授 中川 敦史 助教授 松浦 良樹 助教授 楠木 正己 理研上級研究員 油谷 克英

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [序論]

生体内における多くの重要な生物学的現象は、蛋白質-蛋白質、蛋白質-配位子間相互作用による蛋白質機能の発現（触媒活性、相手分子の認識、複合体形成、等）によって達成される。そのため、このような生体分子間の相互作用の原理を究明する事は、幾多の生命現象を理解する上で非常に重要である。

トリプトファン合成酵素は、L-トリプトファン生合成の最終段階を触媒する。細菌の本酵素は、 $\alpha$  と  $\beta$  二種の異なるサブユニットからなる、 $\alpha_2\beta_2$  量体である。両サブユニットは単離が可能で、溶液中でそれぞれ単量体、二量体として存在し、それぞれ異なる反応である  $\alpha$  反応（式 1）、 $\beta$  反応（式 2）を触媒する。また、生体内において重要な反応である  $\alpha\beta$  反応（式 3）は、 $\alpha_2\beta_2$  複合体で触媒される。



本酵素は  $\alpha$ 、 $\beta$  両サブユニットが  $\alpha_2\beta_2$  複合体を形成した時、触媒活性が単独で存在する時に比べ二桁以上増幅されるという特徴を持つ。このような相互活性化は複合体形成による個々のサブユニットの構造変化に起因すると考えられ、蛋白質-蛋白質間相互作用における構造変化と活性化の機構を調べる上で最適なモデル酵素である。この機構の解明には、各サブユニット単独と複合体の詳細な立体構造の比較を行う必要がある。現在までに複数のグループによって本酵素の立体構造の解明が試みられ、1988 年には NIH のグループでサルモネラ菌由来の  $\alpha_2\beta_2$  複合体の X 線結晶構造解析の報告がなされた。然しながら、サブユニット単独での立体構造の報告は未だ無かった。

## [結果と考察]

今回、我々は大腸菌由来の本酵素の各サブユニット単独での X 線結晶構造解析を試み、 $\alpha$  サブユニットについては 2.3 Å 分解能、 $\beta_2$  サブユニットでは、アポ酵素と補酵素 PLP を含むホロ酵素でそれぞれ 3.0 Å、2.9 Å 分解能の立体構造を得る事が出来た。我々は、相互活性化機構を立体構造に基づいて解明するため、サルモネラ菌由来の  $\alpha_2\beta_2$  複合体と、大腸菌由来の各サブユニット単独の構造をサルモネラ菌由来の  $\alpha_2\beta_2$  複合体構造と詳細に比較して、複合体形成による構造変化を抽出した。

$\alpha$  サブユニットは複合体中で、触媒に必須の残基 Glu49 と Asp60 が活性部位を形成している。しかし単独体構造では、Asp60 を含む周囲の構造が大きく変化していた。また、 $\beta_2$  サブユニット単独構造では、活性部位に大きな構造の相違は見られなかったが、基質インドールを活性部位へ送るトンネルの幅に違いが見られた。即ち、 $\alpha_2\beta_2$  複合体形成によって、 $\alpha$  サブユニットの活性部位が正しく形成され、 $\beta_2$  サブユニットのトンネル幅が基質輸送に適するよう変化することによって、両サブユニットの触媒活性が著しく増幅される事が判った。

また、 $\beta_2$  サブユニットについて、アポ酵素とホロ酵素の熱安定性実験と立体構造比較を行った結果、PLP の結合が構造変化を引き起こし、分子内部の相互作用が増加し熱安定性を高める事が判った。

## 論文審査の結果の要旨

トリプトファン合成酵素は  $\alpha_2\beta_2$  複合体を形成して、 $\alpha$  反応とそれに続く  $\beta$  反応の 2 段階の反応によってトリプトファンを合成する。 $\alpha_2\beta_2$  複合体の構造は既に X 線結晶構造解析されている。 $\alpha$  サブユニットは  $\alpha$  反応を触媒し、 $\beta$  サブユニットは  $\beta$  反応を触媒する。細胞内では  $\alpha_2\beta_2$  複合体で存在し、その反応速度は  $\alpha$  反応、 $\beta$  反応共に単独の  $\alpha$  サブユニット及び  $\beta$  サブユニットよりも 50~100 倍亢進される。複合体を形成することによって反応が亢進される理由を明らかにするために、 $\alpha$  サブユニット単独及び  $\beta$  サブユニット単独の X 線結晶構造解析を行った。その結果、複合体形成によって生じるサブユニットの構造変化が反応速度の上昇の原因であることを明らかにした。

この研究は複合体形成による酵素機能の亢進の仕組みを明らかにした貴重な研究であり、博士（理学）の学位に値するものであると認める。